

Pengaruh Menyikat Gigi dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak (*Salvadora persica*) terhadap Jumlah Koloni Bakteri Anaerob pada Saliva dan Mukosa Gingiva Santri Ar-Razi

Catur Eka Sukma, Helmin Elyani, Arif Yahya*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

email: arifyahya@unisma.ac.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Bakteri anaerob di dalam rongga mulut memiliki potensi terhadap kesehatan di rongga mulut dan juga sistemik. *Sodium Lauryl Sulfat* (SLS) dan fluoride pada pasta gigi berfungsi sebagai antibakteri. Benzyl isothiocyanate (BITC) pada siwak memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari kombinasi siwak dan pasta gigi terhadap pertumbuhan bakteri anaerob pada saliva dan mukosa gingiva.

Metode: Penelitian eksperimental dengan desain *pre* dan *post test group*. Sejumlah 36 responden dibagi menjadi 2 kelompok, menyikat menggunakan pasta gigi dan menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak selama 10 hari. Sampel dari saliva dan mukosa gingiva diambil sebelum dan setelah perlakuan dan ditumbuhkan pada media *Anaerobic Nutrient Agar* (NA). Data sebelum dan setelah perlakuan dianalisa dengan uji *paired t-test*.

Hasil: Penyikatan dengan pasta gigi setelah perlakuan meningkatkan jumlah bakteril anaerob pada saliva sebesar 34% dan menurunkan pada gingiva sebesar 53%. Penyikatan dengan kombinasi pasta gigi dan siwak setelah perlakuan perlakuan meningkatkan jumlah bakteri anaerob pada saliva sebesar 36% menurunkan pada gingiva sebesar 33%.

Kesimpulan: Kombinasi menyikat dengan menggunakan siwak dan pasta gigi selama 10 hari mampu menurunkan jumlah bakteri anaerob pada sampel gingiva.

Kata Kunci: Siwak, pasta gigi, bakteri anaerob

Corresponding author: arifyahya@unisma.ac.id

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

(0341)551932

The Effect of Brushing Teeth with a Combination of Toothpaste and Siwak (*Salvadora persica*) in the Amount of Anaerobic Bacteria Colony in Saliva and Gingival Mucosa Santri Ar-Razi

ABSTRACT

Background: Anaerobic bacteria in oral cavity have the potential for health in the oral cavity and also systemic. *Sodium Lauryl Sulfat* (SLS) and fluoride in toothpaste as an antibacterial. Benzyl isothiocyanate (BITC) in siwak has antibacterial activity. This study aim to prove the effect of combination siwak and toothpaste towards anaerobic bacteria in saliva and mucosal gingiva.

Method: This research was experimental laboratory with pre and post test group design. A total of 36 respondents were divided into 2 groups, brushing using toothpaste and brushing using a combination of toothpaste and siwak during 10 days. Samples of saliva and gingival mucosa were taken before and after treatment and was grown on *Anaerobic Nutrient Agar* (NA) media. Data of before and after treatment were analyzed using *paired t-test*.

Result: In group using toothpaste only after treatment increased the amount of anaerobic bacteria in saliva by 34% and decreased in gingiva by 53%. In group using the combination toothpaste and siwak after treatment increased the amount of anaerobic bacteria in saliva by 36% and decreased in gingiva by 33%.

Conclusion: The combination of brushing using siwak and toothpaste for 10 days can reduce the amount of anaerobic bacteria in gingival samples.

Keywords: Siwak, toothpaste, anaerobic bacteria

PENDAHULUAN

Flora normal di dalam rongga mulut memiliki potensi terhadap kesehatan di rongga mulut dan juga sistemik. Di dalam rongga mulut. Terdapat 91,74% kasus periodontitis diperantarai oleh bakteri anaerob¹. Flora normal rongga mulut dipengaruhi oleh usia, diet, lingkungan rongga mulut yang berubah, konsumsi antibiotik, pola makan, higienitas oral, penyakit sistemik, dan penyakit oral^{2,3}. *Porphyromonas gingivalis* memiliki endotoksin yang disebut lipopolisakarida (LPS) yang memiliki efek langsung pada endotel. LPS dapat merekrut sel-sel inflamasi ke dalam pembuluh darah dan merangsang proliferasi otot polos pembuluh darah, koagulasi intravaskular, dan trombosit⁴. *P. gingivalis* dapat menurunkan fungsi vaskular gingiva dan peningkatan resistensi insulin pada penelitian tikus model diabetes. *P. gingivalis* bertanggung jawab atas terjadinya inflamasi pada paru-paru yang melibatkan rekrutmen dan produk sitokin proinflamasi. LPS yang terdapat pada *P. gingivalis* dan *T. denticola* dapat berpengaruh terhadap perkembangan peradangan otak pada penyakit Alzheimer. Pada pasien dengan penyakit Alzheimer memiliki tingkat antibodi yang lebih tinggi terhadap *P. gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, dan *Tannarella Forsythia*⁵.

Pasta gigi mengandung beberapa komponen yang berperan dalam menjaga kesehatan gigi dan mulut. Salah satu komponen abrasif yang terdapat pada pasta gigi yaitu baking soda (*sodium bikarbonat*) yang digunakan untuk membersihkan plak, mampu menetralkan asam, dan memiliki aktivitas antibakteri. Detergen (*Sodium Lauryl Sulfat* (SLS)) berfungsi sebagai pembentuk busa, antimikroba, dan antibakteri. Fluoride berfungsi sebagai antibakteri, berperan dalam proses remineralisasi gigi, dan dapat membentuk ketahanan pada gigi terhadap proses demineralisasi, serta mencegah karies⁶. SLS mampu menyebabkan terjadinya peradangan dan deskuamasi mukosa mulut⁷. Mengonsumsi fluoride dalam dosis tinggi mampu menyebabkan terjadinya fluorosis gigi, timbulnya bintik-bintik pada gigi. Selain itu, dapat pula terjadi kasus skeletal fluorosis pada tulang⁸.

Siwak (*Salvadora persica*) merupakan batang kayu pembersih yang memiliki komponen mekanik dan komponen kimia sebagai bahan pembersih rongga mulut. Dalam Islam, bersiwak merupakan salah satu sunnah yang disukai dan sering dilakukan oleh Rasulullah SAW. Rasulullah SAW. bersabda, "Kalau bukan karena akan memberatkan umatku maka akan kuperintahkan mereka untuk bersiwak setiap akan wudlu." (HR. Bukhori dan Muslim, Irwaul Golil no. 70)⁹. Kandungan trimetilamin dan vitamin C dapat membantu dalam perbaikan dan penyembuhan pada jaringan gusi. Noda dan kalkulus yang terdapat pada gigi dapat dihilangkan oleh adanya klorida. Silika berfungsi sebagai abrasi yang bekerja pada saat proses penggosokan siwak. Adanya adhesi dan akumulasi

plak pada permukaan gigi dapat dikurangi dengan adanya trimetilamin. Sulfur dapat memberikan aroma yang khas pada kayu siwak. Florida mampu mencegah terjadinya karies dan mengurangi asam yang terbentuk dari bakteri rongga mulut. Bikarbonat mampu mempertahankan sistem buffer rongga mulut¹⁰. Benzyl isothiocyanate (BITC) merupakan suatu komponen antibakteri pada siwak yang memiliki aktivitas untuk membunuh bakteri periodontal Gram negatif *Porphyromonas gingivalis* dan *Actinobacillus actinomycetemcomitans*¹¹.

Peneliti akan melakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh dari kombinasi siwak dan pasta gigi terhadap pertumbuhan flora normal anaerob pada saliva dan gusi santri Pondok Pesantren Ar-Razi dengan menggunakan metode kultur *Anaerobic Nutrient Agar* (NA).

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Jenis penelitian merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *pre* dan *post test group* yang dilakukan secara *in vivo*. Perlakuan dilaksanakan selama 10 hari yaitu 1 Juli 2019 sampai 11 Juli 2019.

Penelitian dilakukan di Pondok Pesantren Ar-Razi Malang dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA). Siwak yang digunakan telah disertifikasi oleh Balai Materia Medica Batu.

Penelitian ini telah disetujui secara etik oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Muhammadiyah Malang dengan No. E.5.a./071/KEPK-UMM/V/20189 pada tanggal 28 Mei 2018.

Responden Penelitian

Populasi responden penelitian adalah santri pria dan wanita Pondok Pesantren Ar-Razi yang memenuhi kriteria inklusi sejumlah 36 orang dan dihitung dengan rumus finit (diketahui) seperti dibawah ini¹².

Keterangan:

n= Jumlah sampel

N= Jumlah populasi

Z_{α}^2 = Harga kurva normal yang tergantung dari harga nilai alpha ($Z_{\alpha 0,05} = 1,96$)

p= Perkiraan proporsi (jika tidak diketahui dianggap 50%)

d= Delta, presisi absolut atau *margin of error* yang diinginkan (1-5%)

Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu santri pria dan wanita yang tinggal di PP Ar-Razi minimal 6 bulan, usia 19-21 tahun, mematuhi syarat menggunakan siwak atau pasta gigi, berada di lokasi selama penelitian, tidak melakukan perawatan gigi ke dokter 6 bulan terakhir termasuk memakai kawat gigi, tidak sakit gigi atau sariawan 3 bulan terakhir, tidak merokok dan minum alkohol, tidak mengonsumsi antibiotik,

kortikosteroid, dan kemoterapi 3 bulan terakhir, serta kooperatif.

Responden dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok 1 menyikat dengan pasta gigi sebelum sarapan dan malam hari sebelum tidur. Kelompok 2 menyikat dengan kombinasi pasta gigi sebelum sarapan dan malam hari sebelum tidur serta kombinasi siwak setiap sebelum sholat 5 waktu. Perlakuan tersebut dilakukan selama 10 hari. Metode penggunaan sikat gigi dan siwak menggunakan teknik *bass*. Peneliti melakukan *follow up* melalui grup *social media*.

Pengambilan Sampel Responden

Sampel diambil dari saliva dan gingiva responden sebelum dan setelah perlakuan. Pengambilan sampel gusi dilakukan dengan *swab* supragingiva pada gingiva bawah yang sering digunakan untuk mengunyah. *Swab* menggunakan *cotton swab* steril lalu dicelupkan ke dalam tabung reaksi yang berisi normal saline (NS) kemudian ditutup dengan menggunakan kapas dan *aluminium foil*. Dan sampel saliva yang diambil dengan metode *spitting* (mengumpulkan saliva di dasar mulut dengan bibir tertutup selama satu menit atau sebanyak 2 ml, kemudian dikeluarkan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi ditutup dengan menggunakan kapas dan *aluminium foil*. Selanjutnya, sampel disimpan di dalam kulkas.

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA) untuk Menumbuhkan Bakteri

Ukur 250 ml aquades dengan gelas ukur kemudian tuangkan ke dalam gelas beker 250 ml. Ambil Nutrient Agar (NA) dengan spatula sebanyak 2,5 gr. Campurkan aquades dan nutrient agar dengan pemanasan hingga larut. Lalu dibagi ke tabung reaksi sebanyak 5-10ml kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah selesai disterilisasi dinginkan di enkas dan ambil cawan petri yang sudah steril untuk menuangkan medium yang sudah tersedia sebanyak 4ml. Kemudian tambahkan mikroba diatas media agar¹³.

Metode *Candle Jar* untuk Menciptakan Lingkungan Anaerob

Letakkan cawan petri yang sudah berisi sampel dan media ke dalam *candle jar*. Setelah cawan petri sudah tersusun di dalam *candle jar*, letakkan lilin diatas tumpukan cawan petri. Olesi malam pada bagian atas *candle jar* sebelum ditutup. Nyalakan lilin dan tutuplah *candle jar*. Tunggu hingga lilin padam. Lalu, letakkan *candle jar* ke dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 37 °C¹⁴. Menghitung koloni dengan menggunakan *colony counter*.

Teknik Analisa Data

Data jumlah koloni flora normal anaerob pada rongga mulut akan dilakukan uji SPSS. Selanjutnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Kemudian dianalisa dengan uji *paired T-Test*.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Responden

Jumlah responden pada penelitian ini didasarkan pada kriteria inklusi sebanyak 36 orang. Karakteristik responden yang telah ditentukan oleh peneliti yaitu responden jenis kelamin pria 18 orang dan wanita 18 orang dengan rentang usia berkisar antara 19-21 tahun. Kelompok 1 yang berisi 9 orang pria dan 9 orang wanita diberi perlakuan menyikat dengan menggunakan pasta gigi selama 10 hari sedangkan kelompok 2 yang berisi 9 orang pria dan 9 orang wanita diberi perlakuan menyikat dengan menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak. Metode penyikatan yang digunakan yaitu dengan teknik *bass*. Perlakuan tersebut dilakukan selama 10 hari dan di *follow up* (pengawasan) melalui *social media*. Selanjutnya, pada hari ke-0 (sebelum perlakuan) dan hari ke-10 (setelah perlakuan) akan dilakukan pengambilan sampel pada saliva dan gingiva. Selanjutnya sampel akan ditanamkan pada media kultur *Nutrien Agar* (NA) untuk menumbuhkan bakteri flora normal dan dimasukkan ke dalam *Candle jar* untuk menumbuhkan bakteri anaerob.

Tabel 5.1 Karakteristik Responden

Karakteristik Responden	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan	
Kelompok	1	2	1	2
Jumlah Responden	- 9 pria - 9 wanita	- 9 pria - 9 wanita	- 9 pria - 9 wanita	- 9 pria - 9 wanita
Usia (tahun)	19-21	19-21	19-21	19-21
Perlakuan	Menyikat dengan pasta gigi	Menyikat dengan pasta gigi dan siwak	Menyikat dengan pasta gigi	Menyikat dengan pasta gigi dan siwak
Lama Perlakuan	10 hari	10 hari	10 hari	10 hari
Sampel yang diambil	Saliva, gingiva	Saliva, gingiva	Saliva, gingiva	Saliva, gingiva

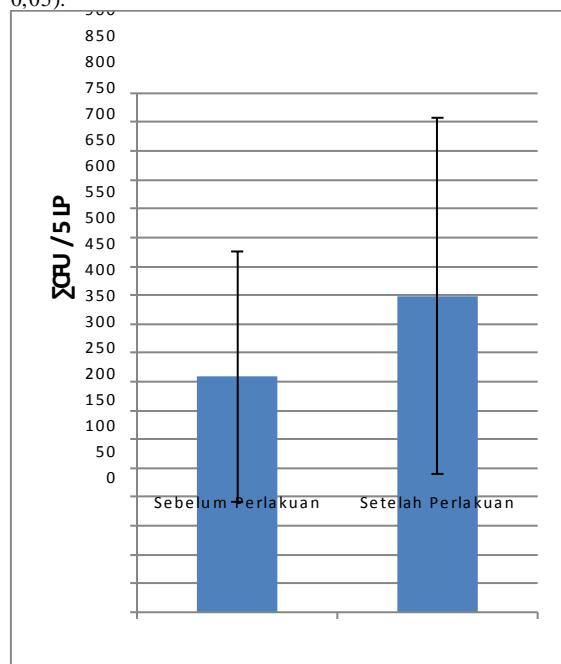
Hasil Pemeriksaan Flora Normal Anaerob pada Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Dari hasil penelitian didapatkan rerata flora normal anaerob dari saliva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi selama 10 hari ditunjukkan pada Tabel 5.2 dan Gambar 5.1.

Tabel 5.2 Rerata Flora Normal Anaerob pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Penyikatan dengan Pasta Gigi	N	Rerata ± SD	p value
Sebelum Perlakuan	18	408,61 ± 217,158	0,037
Setelah Perlakuan	18	548,78 ± 308,876	

Keterangan: Tabel 5.2 menunjukkan rerata jumlah pertumbuhan flora normal anaerob pada sampel saliva yang menyikat dengan menggunakan pasta gigi. Data diuji dengan menggunakan *paired sample t-test* dan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).



Gambar 5.1 Histogram Rerata Flora Normal Anaerob pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi Sebelum dan Setelah Perlakuan

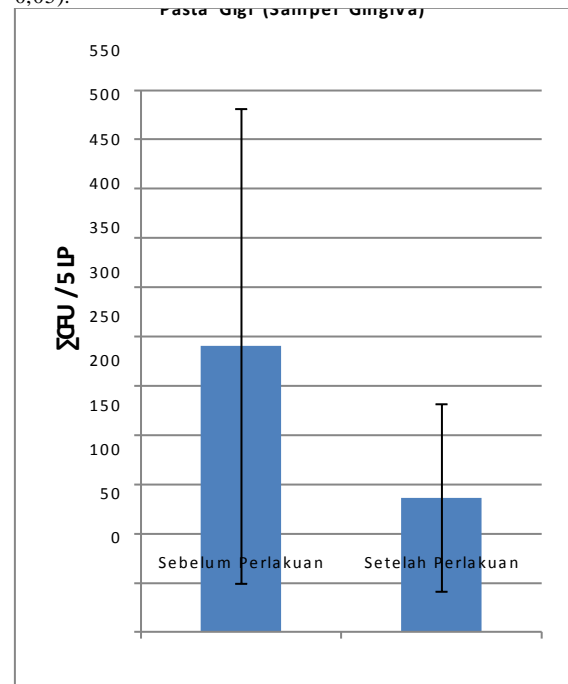
Berdasarkan Tabel 5.2 dan Gambar 5.1 diatas menyikat dengan pasta gigi yang selama 10 hari meningkatkan secara bermakna flora normal anaerob saliva sebesar 34%.

Dari hasil penelitian didapatkan rerata flora normal anaerob dari gingiva responden yang menyikat menggunakan pasta gigi selama 10 hari ditunjukkan pada Tabel 5.3 dan Gambar 5.2.

Tabel 5.3 Rerata Flora Normal Anaerob pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Penyikatan dengan Pasta Gigi	N	Rerata ± SD	p value
Sebelum Perlakuan	18	289,94 ± 241,189	0,016
Setelah Perlakuan	18	135,94 ± 95,256	

Keterangan: Tabel 5.3 menunjukkan rerata jumlah pertumbuhan flora normal anaerob pada sampel gingiva yang menyikat dengan menggunakan pasta gigi. Data diuji dengan menggunakan *paired sample t-test* dan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).



Gambar 5.2 Histogram Rerata Flora Normal Anaerob pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi Sebelum dan Setelah Perlakuan

Keterangan: Gambar 5.2 menunjukkan rerata flora normal anaerob pada gingiva responden yang menyikat dengan pasta gigi sebelum perlakuan lebih besar daripada setelah perlakuan.

Berdasarkan Tabel 5.3 dan Gambar 5.2 diatas, menyikat menggunakan pasta gigi selama 10 hari menurunkan secara bermakna flora normal anaerob gingiva sebesar 53%.

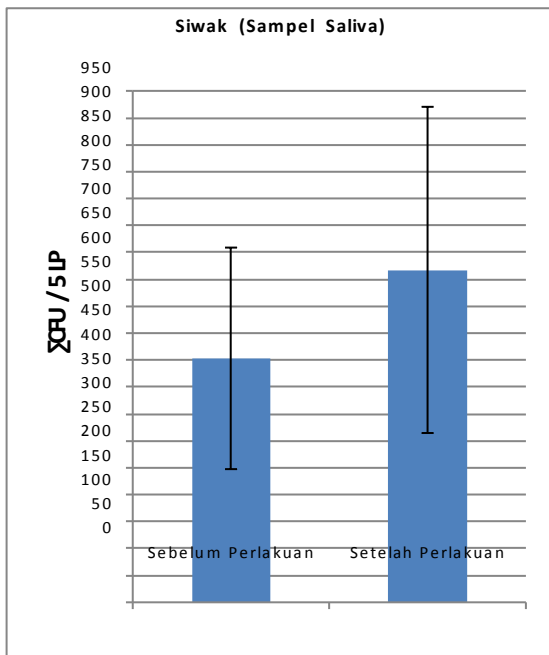
Hasil Pemeriksaan Flora Normal Anaerob pada Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak

Dari hasil penelitian didapatkan rerata flora normal anaerob dari saliva responden yang menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak selama 10 hari ditunjukkan pada Tabel 5.4 dan Gambar 5.3.

Tabel 5.4 Rerata Flora Normal Anaerob pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak

Penyikatan dengan Kombinasi	N	Rerata ± SD	p value
Sebelum Perlakuan	18	453,17 ± 205,758	0,055
Setelah Perlakuan	18	617,44 ± 302,952	

Keterangan: Tabel 5.4 menunjukkan rerata jumlah pertumbuhan flora normal anaerob pada sampel saliva yang menyikat dengan menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak. Data diuji dengan menggunakan *paired sample t-test* dan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$).



Gambar 5.3 Histogram Rerata Flora Normal Anaerob pada Saliva Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak Sebelum dan Setelah Perlakuan

Keterangan: Gambar 5.3 menunjukkan rerata flora normal anaerob pada saliva responden yang menyikat dengan kombinasi pasta gigi dan siwak setelah perlakuan lebih besar daripada sebelum perlakuan.

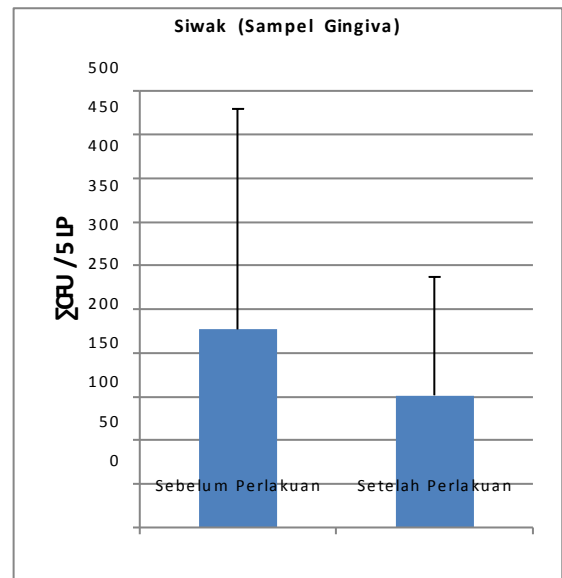
Berdasarkan **Tabel 5.4** dan **Gambar 5.3** diatas, menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak selama 10 hari meningkatkan secara tidak bermaknas flora normal anaerob saliva sebesar 36%.

Dari hasil penelitian didapatkan rerata flora normal anaerob dari gingiva responden yang menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak selama 10 hari ditunjukkan pada **Tabel 5.5** dan **Gambar 5.4**.

Tabel 5.5 Rerata Flora Normal Anaerob pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak

Penyikatan dengan Kombinasi	N	Rerata ± SD	p value
Sebelum Perlakuan	18	226,89 ± 252,484	0,120
Setelah Perlakuan	18	151,39 ± 135,549	

Keterangan: Tabel 5.5 menunjukkan rerata jumlah pertumbuhan flora normal anaerob pada sampel gingiva yang menyikat dengan menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak. Data diuji dengan menggunakan *paired sample t-test* dan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$).



Gambar 5.4 Histogram Rerata Flora Normal Anaerob pada Gingiva Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak Sebelum dan Setelah Perlakuan

Keterangan: Gambar 5.4 menunjukkan rerata flora normal anaerob pada saliva responden yang menyikat dengan kombinasi pasta gigi dan siwak sebelum perlakuan lebih besar daripada setelah perlakuan.

Berdasarkan **Tabel 5.3** dan **Gambar 5.2** diatas, menyikat menggunakan kombinasi pasta gigi dan siwak selama 10 hari menurunkan secara tidak bermakna flora normal anaerob gingiva sebesar 33%.

PEMBAHASAN

Karakteristik Responden

Penelitian ini memiliki 36 orang responden berdasarkan perhitungan dari rumus populasi finit (diketahui) yang terdiri dari 18 pria dan 18 wanita. Peneliti menginginkan jumlah antara responden pria dan wanita seimbang karena tidak ada perbedaan yang signifikan dari prevalensi salah satu jenis dari flora normal anaerob yaitu *Porphyromonas gingivalis* terkait jenis kelamin pada rongga mulut yang sehat¹⁵.

Pemilihan responden juga didasarkan pada kriteria inklusi sebagai berikut santri pria dan wanita yang tinggal di Pondok Pesantren Ar-Razi selama 6 bulan, usia 19-21 tahun, bersedia menggunakan siwak dan pasta gigi selama 10 hari, berada di lokasi selama penelitian, tidak melakukan perawatan gigi selama 6 bulan terakhir termasuk kawat gigi, tidak mengalami sakit gigi atau sariawan dalam 3 bulan terakhir, tidak merokok dan minum alkohol, tidak mengkonsumsi antibiotik,

kortikosteroid, dan kemoterapi dalam 3 bulan terakhir, serta kooperatif dan bersedia dilakukan pengambilan sampel pada saliva dan gingiva. Pemilihan kriteria inklusi didasarkan pada flora normal rongga mulut yang dipengaruhi oleh usia, diet, lingkungan rongga mulut yang berubah, konsumsi antibiotik, pola makan, higienitas oral, penyakit sistemik, dan penyakit oral^{2,3}.

Pemilihan responden yang berusia 19-21 tahun yang tinggal di Pondok Pesantren Ar-Razi yang merupakan mahasiswa Fakultas Kedokteran. Pemilihan usia 19-21 tahun karena pada usia 16-20 tahun mampu mengetahui dan memahami cara menjaga kebersihan gigi dan mulut dengan baik¹⁶. Pemilihan responden dengan tingkat pendidikan mahasiswa karena tingginya tingkat pendidikan menunjukkan pengaruh yang baik terhadap perilaku dan sikap terhadap kesehatan gigi dan mulut¹⁷. Mengonsumsi antibiotik dengan spektrum yang luas mampu memusnahkan sebagian besar flora endogen. Scalling gigi dapat mengubah komposisi flora normal pada saku gingiva. Pencabutan gigi dapat menurunkan *S. sanguinis* dan *S. mutans* yang berkolonisasi pada gigi. Obat-obatan tertentu dapat menyebabkan penurunan aliran saliva sehingga memungkinkan flora normal dapat berkembang biak dan menyebabkan penekanan pada kekebalan tubuh, seperti penggunaan steroid¹⁸.

Responden dikelompokkan lagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok 1 menyikat dengan menggunakan pasta gigi (pagi setelah sarapan dan malam sebelum tidur) dan kelompok 2 menyikat dengan menggunakan kombinasi pasta gigi (pagi setelah sarapan dan malam sebelum tidur) dan siwak (setiap sebelum sholat 5 waktu). Penyikatan dengan pasta gigi yang dilakukan sebanyak 2 kali sehari (pagi setelah sarapan dan malam sebelum tidur) sesuai dengan anjuran Persatuan Dokter Gigi Indonesia (PDGI). Frekuensi dan waktu yang tepat dalam menggosok gigi mampu mencegah pertumbuhan bakteri di dalam rongga mulut¹⁹. Kebiasaan menggosok gigi pada malam hari menunjukkan angka kejadian karies gigi yang rendah (21,1%)²⁰. Penggunaan siwak sebanyak 5 kali sehari didasarkan pada penelitian yang menyebutkan bahwa plak dan gingivitis secara signifikan berkurang dengan penggunaan siwak sebanyak 5 kali sehari setiap sebelum sholat dibandingkan dengan sikat gigi konvensional²¹.

Pada penelitian ini, digunakan teknik bass untuk menyikat dengan pasta gigi maupun siwak. Hal ini didasarkan pada data bahwa menyikat dengan teknik bass mampu menghilangkan plak yang berada di tepi dan sekitar gingiva karena mampu menjangkau tepi gingiva dan masuk ke dalam celah gigi dengan baik²². Menyikat dengan teknik bass yaitu dengan mengarahkan ujung sikat 45° terhadap permukaan gigi. Selanjutnya, ujung sikat diarahkan menuju gingiva secara perlahan dengan gerakan memutar dan masuk ke dalam celah antar gigi. Teknik bass lebih efektif

menghilangkan plak sebesar 4,6% dibandingkan metode roll. Namun, teknik bass juga dapat mengakibatkan sensitivitas pada gingiva jika tidak dilakukan dengan hati-hati²³.

Penyikatan dilakukan selama 10 hari mengacu pada data bahwa terdapat penurunan indeks plak gigi pada penggunaan pasta gigi selama satu minggu dan terjadi penurunan skor plak setelah perlakuan penggunaan pasta gigi dan siwak selama 7 hari^{24,25}.

Selama berlangsungnya perlakuan menyikat gigi, dilakukan pengawasan secara tidak langsung. Pengawasan merupakan suatu kegiatan mengamati, menilai, dan menciptakan suatu sistem yang bertujuan agar hasil dari pelaksanaan kegiatan dapat dicapai dengan tepat. Pengawasan kerja secara signifikan berpengaruh terhadap kinerja karyawan²⁶. Jenis pengawasan yang digunakan pada penelitian ini adalah pengawasan secara tidak langsung yang dilaporkan secara tulis melalui *media social*. Kelebihan dari pengawasan secara tidak langsung adalah dapat dilakukan dengan jarak jauh dengan berdasarkan laporan dan hasil diskusi tanpa harus terjun langsung ke lapangan. Namun, kekurangannya adalah pelapor dapat melaporkan hal-hal baik yang mendukung penelitian atau sesuai harapan²⁷.

Pemilihan sampel pada saliva karena saliva memiliki molekul pertahanan bersifat antimikroba, seperti *antimicrobial peptides* (AMP), glikoprotein saliva mayor, dan glikoprotein saliva minor. Saliva juga memiliki protein seperti lisozim, laktoferin, dan laktoperoksidase untuk mengganggu aktivitas bakteri patogen dalam berkembangbiak dan membunuh bakteri²⁸. Pada gingiva juga terdapat AMP yang berfungsi melekat pada membran bakteri dan menarik peptida bakteri serta mampu penetrasi ke dalam membran bakteri hingga menyebabkan kematian sel bakteri²⁹.

Sampel saliva dan gusi pada hari ke-0 dan ke-10 ditumbuhkan pada media *Nutrient agar* (NA) dan selanjutnya ditumbuhkan pada lingkungan anaerob pada *Candle jar*. Media NA merupakan media yang umum digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dan mampu menumbuhkan bakteri anaerob. *Bacillus sp.* yang bersifat anaerob dapat tumbuh lebih jelas dan besar pada media *Nutrient agar* (NA) dibandingkan limbah tahu³⁰. Namun, media kultur *Nutrient agar* (NA) tidak dapat mengukur jumlah sel bakteri dan ekspresi gen bakteri sehingga diperlukan metode *Realtime Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) yang memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi untuk melihat ekspresi gen dan jumlah bakteri³¹. Pembuatan lingkungan anaerob pada *Candle jar* merupakan teknik menumbuhkan bakteri anaerob yang dapat mengurangi oksigen dengan cepat karena dapat menghasilkan sejumlah karbon monoksida yang dapat menghambat mikroorganisme aerob. Namun, metode *candle jar* memiliki kekurangan yaitu tidak dapat sepenuhnya

menghabiskan semua oksigen¹².

Hasil Pemeriksaan Flora Normal Anaerob pada Responden yang Menyikat dengan Pasta Gigi

Jumlah flora normal anaerob pada sampel saliva milik responden yang menyikat menggunakan pasta gigi meningkat secara signifikan, peneliti menduga hal yang berhubungan yaitu *sodium lauryl sulfate* (SLS), fluoride, dan faktor virulensi yang dimiliki flora normal anaerob.

Pasta gigi yang hanya mengandung *sodium lauryl sulfate* (SLS) dan fluoride meningkatkan bakteri di saliva sebesar 30% yang telah ditanamkan pada media *nutrient agar* (NA). Namun, pasta gigi yang mengandung triklosan dapat menurunkan bakteri di saliva sebesar 6%³². *Sodium lauryl sulfate* (SLS) mampu menghambat pH saliva, kurang efektif dalam mengurangi pertumbuhan plak dan enzim lektoperoksidase yang terkandung di dalam saliva sebagai antibakteri dapat rusak dikarenakan adanya *sodium lauryl sulfate* (SLS). Kandungan *sodium lauryl sulfate* (SLS) sebesar 0,0001% yang dapat ditoleransi oleh saliva³³. Fluor pada pasta gigi memiliki efek antibakteri yang dipengaruhi oleh lama interaksi dengan bakteri di rongga mulut, jumlah bakteri di rongga mulut, dan konsentrasi fluor pada pasta gigi⁶.

Beberapa bakteri anaerob yang memiliki fimbriae mampu menyebabkan bakteri tersebut menempel tiga hingga empat kali lipat lebih baik dan berinteraksi dengan protein saliva³⁴. Lipopolisakarida (LPS) pada bakteri anaerob mampu melindungi bakteri untuk dapat bertahan hidup dari antibiotik dan bahan kimia seperti *sodium lauryl sulfate* (SLS) sehingga mampu menjadi patogen³⁵. Faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri akan membantu bakteri untuk bertahan hidup dan berkembang biak dengan baik pada saliva.

Jumlah flora normal anaerob pada sampel gingiva milik responden yang menyikat menggunakan pasta gigi menurun secara signifikan, peneliti menduga hal yang berhubungan dengan teknik bass yang digunakan untuk menyikat, bahan abrasif pada pasta gigi, dan frekuensi menyikat gigi.

Menyikat gigi dengan menggunakan teknik bass merupakan teknik yang efektif untuk menghilangkan plak yang berada di sekitar dan di bawah tepi gingiva. Hal tersebut terjadi karena serabut-serabut dari sikat gigi yang diarahkan ke tepi gingiva mampu memasuki daerah gingiva dan celah gigi dengan baik²². Selain itu, efek mekanik dari tekanan bulu sikat gigi mampu membersihkan sisa makanan dan membersihkan plak²⁴. Selain itu, kandungan bahan abrasif pada pasta gigi dapat membersihkan akumulasi bakteri yang terdapat pada daerah gingiva⁶. Frekuensi menyikat gigi 2 kali sehari (setelah sarapan dan sebelum tidur) dapat membersihkan sisa-sisa makanan yang terdapat pada permukaan gigi. Jumlah DNA *Porphyromonas gingivalis* pada sampel gingiva menurun setelah dilakukan perlakuan menggunakan

pasta gigi selama 10 hari secara signifikan dengan metode RT-PCR dikarenakan metode penyikatan dengan teknik bass, bahan abrasif yang terkandung pada pasta gigi, dan jumlah *P. gingivalis* pada gingiva sedikit³⁶. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Mark dan Kimberly pada tahun 2008 yang dilakukan di Amerika, sodium bikarbonat atau baking soda yang terkandung di dalam pasta gigi sebagai komponen abrasif mampu membersihkan plak tanpa merusak permukaan gigi. Selain itu, baking soda juga mampu menetralkan produksi asam dari metabolisme bakteri dan mampu mengakibatkan dehidrasi pada sel bakteri⁶. Sehingga efek mekanik dari bulu sikat dan kandungan bahan abrasif pada pasta gigi yang dikombinasikan dengan teknik bass sebanyak 2 kali sehari dapat secara efektif membersihkan sisa-sisa makanan yang ada di permukaan gigi sehingga dapat menurunkan akumulasi dari bakteri.

Data hasil sampel saliva dan gingiva kelompok pasta gigi menunjukkan standar deviasi yang tinggi, peneliti menduga:

1. Pengawasan dilakukan secara tidak langsung terhadap perlakuan yang diberikan.
2. Media pertumbuhan dan pembuatan lingkungan anaerob yang kurang tepat.

Hasil Pemeriksaan Flora Normal Anaerob pada Responden yang Menyikat dengan Kombinasi Pasta Gigi dan Siwak

Jumlah flora normal anaerob pada sampel saliva milik responden yang menyikat menggunakan pasta gigi dan siwak meningkat secara tidak signifikan, peneliti menduga hal yang berhubungan dengan *sodium lauryl sulfate* (SLS), fluoride, faktor virulensi dari flora normal anaerob, dan durasi penggunaan siwak.

Terjadi peningkatan sebesar 30% pada responden yang menyikat menggunakan pasta gigi yang hanya fluoride dan *sodium lauryl sulfate* (SLS)³². *Sodium lauryl sulfate* (SLS) mampu merusak enzim lektoperoksidase yang bekerja sebagai antibakteri pada saliva. Kandungan *sodium lauryl sulfate* (SLS) sebesar 0,0001% yang dapat ditoleransi oleh saliva³³. Efektivitas sifat antibakteri pada fluor dipengaruhi oleh lamanya interaksi dengan bakteri di rongga mulut, jumlah bakteri di rongga mulut, dan konsentrasi fluor yang terkandung pada pasta gigi⁶.

Bakteri anaerob memiliki faktor virulensi seperti fimbriae, kapsul, dan gingipain. Fimbriae mampu berikatan dengan reseptor protein saliva dan mampu mengikat spesies bakteri lain untuk berkolonisasi. Serta kapsul yang digunakan untuk melindungi diri sehingga menjadi lebih invasif. Gingipain juga berperan penting dalam proses proliferasi bakteri dan menjadi sumber energi bagi flora normal anaerob menjadi patogen³⁷. Sehingga faktor virulensi yang dimiliki oleh bakteri anaerob akan membantu untuk bertahan hidup dan berkembang biak dengan baik pada saliva.

Benzyl isothiocyanate (BITC) pada ekstrak siwak memiliki efek bakterisidal yang kuat dan

cepat karena mampu masuk ke dalam membran bakteri *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *Haemophilus influenza*, *Salmonella enterica*, dan *Pseudomonas aeruginosa*¹¹. Ekstrak siwak memiliki efek bakterisidal terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Bacteroides melaninogenicus*^{38,39}. Namun efek tersebut didapatkan dari penggunaan ekstrak siwak. Penggunaan siwak secara langsung biasanya digunakan untuk jangka waktu yang lebih lama dengan proses pembersihan selama 5 hingga 10 menit dan serat akan mampu menghilangkan plak dan secara bersamaan akan membersihkan gusi⁴⁰. Penggunaan siwak sebanyak 5 kali sehari setiap sebelum sholat dapat mengurangi plak dan gingivitis secara signifikan dibandingkan dengan penggunaan sikat gigi konvensional²¹. Sehingga dapat disimpulkan bahwa frekuensi dan durasi dari menyikat menggunakan siwak dapat mempengaruhi jumlah flora normal anaerob.

Jumlah flora normal anaerob pada sampel gingiva milik responden yang menyikat menggunakan pasta gigi dan siwak menurun secara tidak signifikan, peneliti menduga hal yang berhubungan dengan teknik bass, bahan abrasif pada pasta gigi, dan bahan aktif pada siwak.

Menyikat menggunakan teknik bass merupakan teknik yang paling efektif untuk dapat membersihkan sisa makanan yang berada pada gingiva serta celah gigi²². Efek mekanik yang didapatkan dari bulu sikat dan serat siwak mampu membersihkan plak dan sisa makanan di dalam rongga mulut²⁴. Penggunaan pasta gigi sebanyak 2 kali sehari (setelah sarapan dan sebelum tidur) mampu membersihkan sisa makanan pada rongga mulut dan mencegah tumbuhnya bakteri anaerob. Bahan abrasif pada pasta gigi juga dapat membersihkan akumulasi bakteri yang berada pada gingiva⁶. DNA *Porphyromonas gingivalis* pada sampel gingiva menurun setelah perlakuan menyikat menggunakan pasta gigi dan siwak selama 10 hari dengan metode RT-PCR dikarenakan metode penyikatan dengan teknik bass, jumlah *P. gingivalis* pada gingiva sedikit, dan bahan abrasif yang terdapat pada siwak³⁶. Gazi et al melaporkan bahwa plak dan radang pada gingiva mampu berkurang secara signifikan ketika miswak digunakan 5 kali sehari dibandingkan dengan sikat gigi konvensional²¹. Sehingga metode dan frekuensi menyikat terbukti efektif mampu menghilangkan plak yang berada di sekitar dan di bawah tepi gingiva.

BITC dan β -sitosterol yang terkandung di dalam siwak mampu menghambat senyawa kariogenik yang terdapat pada permukaan gigi. Selain itu, minyak atsiri (volatile) dari siwak mampu membunuh patogen Gram negatif *A. actinomycetemcomitans* dan *P. gingivalis*. Volatile dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba, berperan dalam buffer pH saliva, dan menghilangkan plak³⁸. Klorida mampu menghambat pembentukan kalkulus dan membantu menghilangkan noda pada gigi²¹. Setelah proses pembersihan dengan menggunakan siwak, bahan

aktif dari siwak akan tinggal di dalam mulut dalam beberapa waktu untuk merangsang saliva dan membersihkan serta memberikan efek antikariogenik⁴⁰. Penggunaan siwak dirasa lebih praktis karena mudah cara menggunakannya, tanpa perlu memakai pasta gigi, dan tanpa perlu berkumur²⁵. Sehingga, teknik bass, bahan abrasif pada pasta gigi, dan bahan aktif pada siwak mampu bekerja secara efektif dalam mengurangi pertumbuhan flora normal anaerob di gingiva.

Dari hasil penelitian menunjukkan standar deviasi yang tinggi, kemungkinan terjadi akibat :

1. Teknik bass belum digunakan dengan baik dan benar.
2. Pengawasan yang dilakukan secara tidak langsung pada penelitian ini.
3. *Nutrient agar* kurang spesifik untuk dapat menumbuhkan bakteri anaerob.
4. Durasi dari penggunaan siwak dan pasta gigi yang pendek.

PENUTUP

Kesimpulan

Kombinasi menyikat dengan menggunakan siwak dan pasta gigi selama 10 hari mampu menurunkan jumlah flora normal anaerob pada sampel gingiva.

Saran

1. Perlunya pengukuran pH saliva untuk mengetahui pengaruh dari pasta gigi dan siwak terhadap saliva.
2. Dibutuhkan waktu lebih lama dalam penggunaan siwak untuk dapat memaksimalkan bahan aktif terhadap rongga mulut.
3. Menggunakan metode RT-PCR untuk mendeteksi bakteri.
4. Melakukan pengawasan secara langsung terhadap responden.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) selaku pemberi dana pada penelitian ini dan kepada dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes selaku *reviewer* jurnal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Benachinmardi, K., Nagamoti, J., Kothiwale, S., and Metgud, S. *Microbial Flora in Chronic Periodontitis: Study at a Tertiary Health Care Center from North Karnataka. Journal of Laboratory Physicians*. Vol. 7(1): 49. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.154798>. 2015
2. Gao, L., Xu, T., Huang, G., Jiang, S., Gu, Y., and Chen, F. *Oral Microbiomes : More and More Importance in Oral Cavity and Whole Body. Protein and Cell*. Vol. 9(5). p. 488-500. <https://doi.org/10.1007/s13238-018-0548-1>. 2018
3. Soleha, T. U., Apriliana, Ety, Hardita, W. A. *Perbedaan Jumlah Flora Normal Rongga*

- Mulut pada Usia Lanjut dan Dewasa yang Pernah Menerima Pengobatan Antibiotik di Bandar Lampung. Medula. Vol. 7.* 2017
4. Li, X., Kolltveit, K. M., Tronstad, L., and Olsen, I. *Systemic Diseases Caused by Oral Microorganisms. Clinical Microbiology Reviews. Vol. 13(2): 57–65.* <https://doi.org/10.1111/j.1600-9657.1994.tb00061.x>. 2000
 5. Bui, F. Q., Almeida-da-Silva, C. L. C., Huynh, B., Trinh, A., Liu, J., Woodward, J., Asadi, H., and Ojcius, D. M. *Association Between Periodontal Pathogens and Systemic Disease. Biomedical Journal. Vol. 42(1): 27–35.* <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.12.001>. 2018
 6. Pratama, R. N. Efek Antibakteri Pasta Gigi yang Mengandung Baking Soda dan Pasta Gigi yang Mengandung Fluor Terhadap Pertumbuhan Bakteri Plak. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. 2014
 7. Bart De Wever, B. V. V., and Frans Ramaeckers, E. A. *The Evaluation of Sodium Lauryl Sulphate in Toothpaste on Toxicity on Human Gingiva and Mucosa: A 3D in vitro Model. Dentistry. Vol. 05(09): 3–7.* <https://doi.org/10.4172/2161-1122.1000325>. 2015
 8. Aoun, A., Darwiche, F., Al Hayek, S., and Doumit, J. *The Fluoride debate: The Pros and Cons of Fluoridation. Preventive Nutrition and Food Science. Vol. 23(3): 171–180.* <https://doi.org/10.3746/pnf.2018.23.3.171>. 2018
 9. As-Soronji, A. A. M. F. Siwak Tuk Kebersihan Mulut dan Keridhoan Robb. 2013
 10. Kusumasari, N. Pengaruh Larutan Kumur Ekstra Siwak (*Salvadora persica*) terhadap PH Saliva. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 2012
 11. Sifrata, A., Santangelo, E. M., Azeem, M., Borg-Karlson, A. K., Gustafsson, A., and Pütsep, K. *Benzyl Isothiocyanate, a Major Component from The Roots of Salvadora persica is Highly Active Against Gram-Negative Bacteria. PLoS ONE. Vol. 6(8).* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023045>. 2011
 12. Kothari CR. *Research Methodology: Methods and Techniques*. Second edition. USA: New Age International Pvt Ltd: 98. 2009.
 13. Difco & BBL. Nutrient agar. *Difco & BBL Manual of Microbial Cell Culture*. Retrieved from http://www.neogen.com/Acumentia/pdf/ProdInfo/7145_PL.pdf. 2009
 14. Saha, U. S., Misra, R., Tiwari, D., and Prasad, K. N. *A Cost-Effective Anaerobic Culture Method & its Comparison with a Standard Method. Indian Journal of Medical Research (IJMR). Vol. 144(4): 611–613.* <https://doi.org/10.4102/0971-5916.200881>. 2016.
 15. Griffen, A. L., Becker, M. R., Lyons, S. R., Moeschberger, M. L., and Leys, E. J. *Prevalence of Porphyromonas gingivalis and Periodontal Health Status. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 35(11). p. 3239–3242.* 1998
 16. Rahtyanti, G. C. S., Hadnyanawati, H., dan Wulandari, E. Hubungan Pengetahuan Kesehatan Gigi dan Mulut dengan Karies Gigi pada Mahasiswa Baru Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Tahun Akademik 2016/2017. *Pustaka Kesehatan. Vol. 6(1).* hlm. 167. <https://doi.org/10.19184/pk.v6i1.7153>. 2018
 17. Sari, R., Herawati, D., Nurcahyanti, R., dan Wardani, P. K. *Prevalensi Periodontitis pada Pasien Diabetes Mellitus. Majalah Kedokteran Gigi Indonesia. Vol. 3(2).* hlm. 98. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.11241>. 2017
 18. Patil, S., Sanketh, D., and Amrutha, N. *Oral Microbial Flora in Health. World Journal of Dentistry. Vol. 4(4). p. 262–266.* <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10015-1242>. 2013
 19. Efendi, R., Arneliwati, dan Indriati. *Hubungan Antara Cara Menggosok Gigi terhadap Kejadian Karies Gigi pada Anak Usia Sekolah*. Program Studi Ilmu Keperawatan Universitas Riau. 2018
 20. Bakar, S. A. *Hubungan Kebiasaan Menggosok Gigi pada Malam Hari dalam Mengantisipasi Karies pada Murid di SDN Ralla 2 Kab. Barru. Media Kesehatan Gigi. Vol. 16(2): 2–10.* 2017.
 21. Mahanani, E. S., Samuel, S. V., Saw, M., Tengah, T., and Miswak, K. *Miswak (Salvadora persica) sebagai Pembersih Gigi. Mutiara Medika. Vol. 7(1): 38–42.* 2007
 22. Montho, Rezky. Perbedaan Pengurangan Plak Menggunakan Metode Menyikat Gigi Horizontal dan Vertikal pada Anak SD Kristen Rantepao Toraja Utara. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar. 2015
 23. Estini, S. Pengaruh Metode Simulasi Menggosok Gigi Menggunakan Teknik Bass terhadap Keterampilan dan Kebersihan Gigi dan Mulut. *Journal of Chemical Information and Modeling.* <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>. 2017
 24. Putra, F. S., Mintjelungan, C. N., dan Juliatri. *Efektivitas Pasta Gigi Herbal dan Non-Herbal terhadap Penurunan Plak Gigi Anak Usia 12-14 Tahun. Jurnal E-Gigi. Vol. 5(2).* <https://doi.org/10.35790/eg.5.2.2017.17022>. 2017
 25. Bramanti, I., RS., I.S., Ula, N., dan Isa, M. *Efektivitas Siwak (Salvadora persica) dan Pasta Gigi Siwak terhadap Akumulasi Plak Gigi pada Anak-Anak. Dental Journal*

- (*Majalah Kedokteran Gigi*). Vol. 47(3). p. 153.
<https://doi.org/10.20473/j.djmg.v47.i3.p153-157>. 2004
26. Ariyanti, R. D. Pengaruh Pelatihan, Disiplin, dan Pengawasan Kerja terhadap Kinerja Karyawan pada Usaha Tenun Ikat Kurniawan di Kota Kediri. Skripsi. Fakultas Ekonomi Universitas Nusantara PGRI Kediri. 2016
 27. Purwadi. *Pengaruh Pengawasan Langsung dan Tidak Langsung terhadap Efektivitas Kerja Pegawai pada Dinas Pekerjaan Umum dan Pemukiman Prasarana Wilayah Kota Samarinda*. *Journal FEB Unmul*. Vol. 14(2). 2017
 28. Hemadi, A. S., Huang, R., Zhou, Y., and Zou, J. Salivary proteins and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment. *International Journal of Oral Science*. Vol. 9(11). 2017
 29. Mallapragada, S., Wadhwa, A., and Agrawal, P. Antimicrobial Peptides: The Miraculous Biological Molecules. *Indian Society of Periodontology*. p. 113-118.
<https://doi.org/10.4103/jisp.jisp>. 2017
 30. Juariah, S., dan Sari, W. P. Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus* sp. *Jurnal Analisis Kesehatan Klinik Sains*. Vol. 6(1). Hlm. 24-29. Retrieved from <http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal/article/view/527>. 2018
 31. Martin, Billy. Kuantitas *fimA* Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Akumulasi Plak Periodontitis Kronis Perokok. Tesis. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 2014
 32. Okpalugo, J., Ibrahim, K., & Inyang, U. S. Toothpaste formulation efficacy in reducing oral flora. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 8(1): 71-77.
 33. Thioritz, E., dan Lesmana, H. Perbedaan pH Saliva dan Pertumbuhan Plak antara Pengguna Pasta Gigi yang Mengandung Deterjen dan Penggunaan Pasta Gigi Non Deterjen pada Murid SDN No, 15 Ganggangbaku Bantaeng. *Media Kesehatan Gigi*. Vol. 17(1). hlm. 8-13.
<https://doi.org/10.32382/MKG.V17I1.159>. 2018
 34. Raja, M., Ummer, F., and Dhivakar, C. P. *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* – A Tooth Killer?. Vol. 8(8): 13-16.
<https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/9845.4766>. 2014
 35. Nikaido H. *Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisited*. *Microbiol Mol Biol Rev* 67:593-656. 2003.
 36. Rahmawati, Nydia. Pengaruh Kombinasi Menyikat dengan Pasta Gigi dan Siwak terhadap Amplikon *Porphyromonas gingivalis* pada Santri Pondok Pesantren Ar-Razi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2019
 37. Khalaf, H., Palm, E., and Bengtsson, T. Cellular Response Mechanisms in *Porphyromonas gingivalis* Infection. *Intech*. Vol. 13. 2016
 38. Abhary, M., and Al-Hazmi, A.-A. Antibacterial Activity of Miswak (*Salvadora persica* L.) Extracts on Oral Hygiene. *Journal of Taibah University for Science*. Vol. 10(4): 513-520.
<https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2015.09.007>. 2016
 39. Zaenab, HW, M., Anny, V., dan Logawa, B. Uji Antibakteri Siwak (*Salvadora persica* Linn.) terhadap *Streptococcus mutans* (ATC31987) dan *Bacteroides melaninogenicus*. Vol. 8(2). hlm. 37-40. 2014
 40. Darout, I. A. Miswak as an Alternative to the Modern Toothbrush in Preventing Oral Diseases. 2003